Aus dem Pharmakologischen Institut
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Ueber den Einfluß einiger Hypnotika auf die Gewebsdehydrasen

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde der
Hohen Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

vorgelegt von
Rudolf Beikirch, Zahnarzt
aus
Dortmund

Münster 1933

Gedruckt in der Buchdruckerei Franz Grube, Werne a. d. Lippe

Dekan: Prof. Dr. Esch

Referent: Privatdozent Dr. W. Haarmann

Korreferent: Prof. Dr. Zipf

Ueber den Einfluss einiger Hypnotika auf die Gewebsdehydrasen.

Wie Warburg[1]) gezeigt hat, hemmen die Narkotika und Hypnotika den Sauerstoffverbrauch überlebender Gewebe. Im allgemeinen wird bisher angenommen, daß die Methylenblauentfärbung bei Sauerstoffabschluß und ähnlichen Reaktionen mit den eigentlichen Oxydationsprozessen parallel gehen. Demgegenüber hat Behnecke[2]) gefunden, daß das Veronal die Methylenblauentfärbung beschleunigt, während es den Sauerstoffverbrauch hemmt. Nach diesen Befunden war zu erwarten, daß möglicherweise auch noch andere Hypnotika sich in beiden elementaren Stoffwechselvorgängen der Zelle gegenüber verschieden auswirken. Daß chemischen Einwirkungen gegenüber die beiden Reaktionen der Zelle verschieden empfindlich sind, ist bekannt. Blausäure und Toluol z. B. hemmen den Sauerstoffverbrauch und lassen die Methylenblauentfärbung unbeeinflußt. Eine entgegengesetzte Beeinflussung beider Reaktionen ist für die Digitaliskörper von Frühauf[3]) im hiesigen Institut nachgewiesen worden.

---

[1]) Wartburg, Otto: Ueber die Empfindlichkeit der Sauerstoffatmung gegenüber indifferenten Narkotika. — Pflügers Arch. 1914. Bd. 158. S. 19.

[2]) Arch. f. exp. Path. und Pharm. Bd. 163. S. 594. 1931.

[3]) Frühauf, Inaugural-Dissertation, Münster 1932.

Da die Dehydrierungsreaktionen, wie Thunberg[4]) gezeigt hat, für jede Donatorsubstanz bestimmte Fermente benötigen, so lag der Gedanke nahe, daß möglicherweise diese Einzelreaktionen unter sich, sich den Hypnoticis gegenüber verschieden verhalten könnten. Damit wäre ein Weg gewiesen, die Wirkung der einzelnen als Schlafmittel gebrauchten Stoffe besser zu kennzeichnen, als es bei der Untersuchung am Tier möglich ist. Es war also die Aufgabe der vorliegenden Arbeit, die Wirkung der verschiedenen Schlafmittel auf überlebendes Gewebe und zwar in Ergänzung der bisher vorliegenden Arbeiten, vor allem die Dehydrierung möglichst vieler Donatorsubstanzen zu untersuchen. Außerdem hatte es sich aus anderen Untersuchungen als wünschenswert herausgestellt, den Einfluß verschiedener Konzentrationen zu prüfen.

[4]) Thunberg, Torsten: Zur Kenntnis des intermediären Stoffwechsels und der dabei wirksamen Enzyme. — Skand. Arch. f. Physiol. 1920, Bd. 40, S. 1.

Methodik.

Als Maß für die Dehydrierungsvorgänge im Gewebe diente die Thunbergsche Methylenblaumethode. Auf Einzelheiten brauch hier nicht näher eingegangen zu werden. Als Versuchsmaterial wurden die Skelettmuskulatur und Niere von Kaninchen, Hund und Meerschweinchen benutzt.

Die einzelnen Versuchsansätze enthielten:

0,2 g Gewebe,

0,6 ccm Wasser,

0,4 ccm Methylenblau von der Konzentration 1/2000 in Phosphatpufferlösung von der Wasserstoffzahl PH=7,0 und einem Phosphatgehalt von m/7,5—PO_4.

In den Versuchen, in denen der Einfluß der Hypnotika auf die Methylenblauentfärbung untersucht wurde, wurden statt 0,6 ccm H_2O 0,3 ccm von Lösungen der Hypnotika in verschiedenen Konzentrationen und 0,3 ccm H_2O zugesetzt.

In Zusatzversuchen, in denen der Abbau bestimmter Verbindungen unter dem Einfluß der Hypnotika zur Untersuchung kam, wurden statt 0,3 ccm H_2O 0,3 ccm einer 1 % Lösung der Natriumsalze von Milchsäure, Bernsteinsäure, Hexose-di-Phosphorsäure, Glycerinphosphorsäure und einer 1 % Lösung von Glukose oder Glykogen den Versuchsansätzen hinzugegeben je nach Gestaltung der Einzelversuche. Die Gesamtmenge der zugesetzten Flüssigkeit betrug in jedem Falle 1,0 ccm.

Die Versuche wurden in Reagenzgläsern angestellt, die in der Bunsenflamme zu einer Kapillare ausgezogen und nach der Evakuierung mit einer Oelpumpe abgeschmolzen wurden.

Zur Untersuchung kamen:

1. Urethan. (Karbaminsäureäthylester), I. G. Farbenindustrie.
2. Voluntal. (Trichloräthylurethan), I. G. Farbenindustrie.
3. Bromural. (Bromisovalerianylharnstoff), Knoll.
4. Veronal-Natrium. (Diäthylbarbitursaures Natrium), I. G. Farbenindustrie.
5. Sulfonal. (Diäthylsulfondimethylmethan), I. G. Farbenindustrie.
6. Avertin. (Tribromäthylalkohol), I. G. Farbenindustrie.

Die Stammlösungen enthielten 1/20 m Lösungen der untersuchten Hypnotika. Wegen der Schwerlöslichkeit des Bromurals und Sulfonals betrug die stärkste Lösung vom Bromural m/50, vom Sulfonal m/200. Durch entsprechende Verdünnungen mit Wasser wurden aus den Stammlösungen äquimolekulare Lösungen von m/200—m/200000 hergestellt. Die Konzentration der Hypnotika in den Versuchsansätzen beträgt dann $^1/_4$ der Zusätze.

Versuchsreihe I.

In Versuchsreihe I wurde der Einfluß der Hypnotika auf die Summe all der im Gewebe vorhandenen dehydrierenden Fermente (Dehydrasen) untersucht, die den Abbau der im Gewebe enthaltenen Brennstoffe vermitteln. Die Versuchsergebnisse sind aus der Tabelle I ersichtlich.

Tabelle I (Unausgewaschenes Gewebe)

Ohne Zusatz

Konzentration in den Versuchsansätzen	Urethan		Voluntal		Bromural		Veronal		Sulfonal		Avertin	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
0,0 :	19	23	25	34	27	43	19	23	25	34	27	43
0,8.10-6:	19	23	25	34	27	43	21	26	26	39	27	53
0,8.10-5:	23	23	25	34	27	43	21	25	27	41	29	56
0,8.10-4:	24	25	31	37	29	53	21	25	28	41	34	63
0,8.10-3:	25	26	33	39	31	59	21	25	37	44	42	65
0,8.10-2:	25	29	41	51	50	63	19	23	—	—	70	85

Organ: Frischer Skelettmuskel. Tier: Meerschweinchen.

Die Versuche zeigen, daß der Einfluß äquimolekularer Lösungen der Hypnotika, die Dehydrierungsvorgänge in verschieden starkem Umfang beeinflussen. Alle untersuchten Hypnotika hemmen die Methylenblauentfärbung mehr oder weniger stark, am stärksten das Avertin. Es folgen Voluntal, Bromural, Sulfonal und Urethan. Eine Ausnahme liegt beim Veronal vor. In dem, bei vorliegenden Versuchen angewandten Konzentrationsbereich, ist nur bei den stärksten Verdünnungen eine geringe Verzögerung der Entfärbungszeit zu beobachten, bei steigenden Konzentrationen nimmt sie immer mehr ab und bei der Konzentration m/20 d. h. etwa 1/400 hört die Hemmung vollkommen auf. Bei einer Konzentration von 1/100 hat Behnecke beim Veronal eine Beschleunigung gefunden. Die für die anderen Hypnotika kennzeichnende Hemmungswirkung auf die Dehydrierung ist also beim Veronal nur bei starken Verdünnungen angedeutet und geht bei starken Konzentrationen in Beschleunigung über.

Elger[5]), der den Einfluß der Hypnotika auf den Sauerstoffverbrauch der Gewebe untersuchte und dessen Versuchsergebnisse sich im wesentlichen mit den von mir mit der Methylenblaumethode erzielten Ergebnissen dekken, hat gleichfalls bei den von ihm angewandten Konzentrationen von 1.10^{-2}-1.10^{-5} eine zunehmende Hemmung der Sauerstoffzehrung mit steigender Konzentration der Hypnotika festgestellt. Beim Vergleich zeigt sich, daß die Dehydrierungsvorgänge gegen die Einwirkung der Hypnotika unempfindlicher sind als die Oxydationen. Ganz besonders gilt das für das Veronal.

Versuchsreihe II.

In Versuchsreihe II wurde die Einwirkung der Hypnotika auf die Dehydrierung der Milchsäure, des Endproduktes des anäroben Kohlehydratabbaus, untersucht. Um die Dehydrierung der übrigen im Gewebe enthaltenen Nährstoffe zurückzudrängen, wurde Natrium-Laktat in den Versuchsansätzen hinzugesetzt. Die Versuchsergebnisse sind aus Tabelle II zu ersehen.

---

[5]) Elger, Inaugural-Dissertation, Münster 1933.

Tabelle II (Unausgewaschenes Gewebe)

Zusatz: Laktat

Konzentration in den Versuchsansätzen	Urethan		Voluntal		Bromural		Veronal		Sulfonal		Avertin	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
0,0 :	48	82	32	64	60	55	48	82	34	64	60	55
$0{,}8.10^{-6}$:	53	68	34	60	60	55	43	82	37	—	65	62
$0{,}8\,10^{-5}$:	43	75	37	64	60	56	43	82	37	79	65	66
$0{,}8.10^{-4}$:	43	72	40	67	60	56	40	78	37	83	70	66
$0{,}8.10^{-3}$:	42	72	43	71	75	56	38	68	38	79	73	71
$0{,}8\,10^{-2}$:	40	55	53	88	75	62	32	52	—		80	81

Organ: Frischer Skelettmuskel. Tier: Meerschweinchen.

Grundsätzlich zeigt sich, daß die Dehydrierung der Milchsäure als Donatorsubstanz nur durch Avertin und Voluntal gehemmt wird und zwar in vergleichsweise viel geringerem Maße als die Oxydationen und ferner als die Dehydrierung der im unausgewaschenen Gewebe vorhandenen Donatorsubstanzen. Beim Sulfonal und Bromural ist die Hemmungswirkung noch eben angedeutet. Ganz abweichend verhalten sich Urethan und Veronal. Sie beschleunigen die Entfärbung des Methylenblaus und zwar zunehmend mit steigender Konzentration, Veronal stärker als Urethan. Vergleicht man den Sauerstoffverbrauch bei Laktatzusatz mit der Methylenblauentfärbung unter dem Einfluß gleicher Hypnotikakonzentrationen, so zeigt sich, daß der oxydative Abbau und die Dehydrierung der Milchsäure durch Urethan und Veronal in entgegengesetzter Richtung beeinflußt werden.

Versuchsreihe III.

Der Abbau des Glykogens setzt nicht direkt am Glykogenmolekül ein, sondern erst nach Aufspaltung des Glykogens zu einfacheren Verbindungen, die aus dem Glykogen über die einfachen Zucker entstehen. Es sind dies Verbindungen mit drei Kohlenstoffatomen, Triosen, von denen neben der Milchsäure das Methylglyoxal nachgewiesen wurde.

Die Methylenblauentfärbung bei Glykogenzusatz und ihre Beeinflussung durch die Hypnotika sind in Tabelle III zusammengestellt. Aus ihr geht hervor, daß die Wirkungsstärke der einzelnen Hypnotika ganz verschieden ist. Die Reihenfolge der Beeinflussung ist ähnlich wie bei der Milchsäure. Die stärkste Hemmungswirkung zeigt auch hier das Avertin; Urethan ist ganz wirkungslos. Die Bromuralwirkung ist schon bei der stärksten Verdünnung voll ausgeprägt und nimmt mit zunehmender Konzentration nicht weiter zu. Gänzlich abweichend verhält sich das Veronal. Es hemmt den Glykogenabbau sehr erheblich und zwar bei der stärksten Verdünnung am meisten. Mit steigender Konzentration nimmt die Hemmungswirkung immer mehr ab und macht schließlich über einen Indifferenzpunkt, bei dem keine Einwirkung festzustellen ist, einer Förderungswirkung Platz. Große Gaben von Veronal wirken also kleinen Gaben entgegengesetzt.

Tabelle III (Unausgewaschenes Gewebe)

Zusatz: Glykogen

Konzentration in den Versuchsansätzen	Urethan		Voluntal		Bromural		Veronal		Sulfonal		Avertin	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
0,0 :	62	47	63	55	40	50	62	47	63	55	40	50
$0{,}8.10^{-6}$:	62	47	70	55	54	50	64	55	76	55	54	53
$0{,}8.10^{-5}$:	62	47	70	61	59	50	61	55	76	57	54	53
$0{,}8.10^{-4}$:	62	47	70	61	60	50	61	48	78	59	59	53
$0{,}8\ 10^{-3}$:	62	47	86	61	60	53	61	47	82	59	69	53
$0{,}8.10^{-2}$:	70	55	91	63	60	53	60	40	—	—	72	70

Organ: Frischer Skelettmuskel. Tier: Meerschweinchen.

Versuchsreihe IV.

Zur Untersuchung des Glukoseabbaus ist die Skelettmuskulatur im Gegensatz zu fast allen anderen Organen wenig geeignet, weil sie Glukose nur in geringem Umfange abbaut. Es kam daher Nierengewebe zur Anwendung, das Glukose leicht verwertet. Die Versuchsergebnisse sind aus Tabelle IV zu ersehen.

Tabelle IV (Unausgewaschenes Gewebe)

Zusatz: Glukose

Konzentration in den Versuchsansätzen	Urethan		Voluntal		Bromural		Veronal		Sulfonal		Avertin	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
0,0 :	37	41	46	41	45	39	37	41	46	41	45	39
$0{,}8.10^{-6}$:	37	41	46	45	47	38	37	42	55	41	49	43
$0{,}8.10^{-5}$:	37	44	54	47	47	39	41	42	55	41	49	44
$0{,}8.10^{-4}$:	37	45	56	47	49	39	41	43	55	47	53	49
$0{,}8.10^{-3}$:	45	45	59	51	49	46	41	43	55	54	72	48
$0{,}8.10^{-2}$:	46	47	62	67	52	46	44	42	—	—	80	56

Organ: Niere. Tier: Hund.

Alle Hypnotika wirken auf den Abbau der Glukose in der gleichen Richtung. Die stärkste Hemmung der Methylenblauentfärbung fällt mit der stärksten Konzentration der Gifte zusammen. Avertin und Voluntal sind auch beim Glukoseabbau am stärksten wirksam. Der Einfluß von Bromural, Urethan und Veronal ist nur gering. Sulfonal steht in der Mitte. Nach den Versuchen Elgers wird der Sauerstoffverbrauch bei Glukosezusatz wesentlich stärker beeinflußt als die Methylenblauentfärbung.

Versuchsreihe V - VII.

Die bisherigen Versuche wurden mit unausgewaschenem Gewebe angestellt. Durch Auswaschen des Gewebes gelingt es, die dehydrierenden Kohlehydrate und einen Teil der Fermente auszuschalten. Erhalten bleiben die Dehydrasen der Bernsteinsäure, Hexose-di-Phosphorsäure und Glycerinphosphorsäure. An solchem Material ist es also möglich, durch Zusatz der Natriumsalze dieser drei Säuren die Beeinflussung dieser Dehydrierungsreaktionen isoliert zu untersuchen. Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen V bis VII zusammengefaßt.

Tabelle V (Ausgewaschenes Gewebe)

Zusatz: Bernsteinsäure

Konzentration in den Versuchsansätzen	Urethan		Voluntal		Bromural		Veronal		Sulfonal		Avertin	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
0,0 :	24	31	20	26	22	50	31	50	47	20	22	32
$0{,}8.10^{-6}$:	24	31	20	26	22	50	31	50	47	20	22	32
$0{,}8.10^{-5}$:	24	31	20	26	22	50	31	50	47	20	24	43
$0{,}8.10^{-4}$:	24	31	20	26	22	50	31	50	47	20	24	58
$0{,}8.10^{-3}$:	24	31	20	26	22	50	31	50	52	33	24	58
$0{,}8.10^{-2}$:	24	32	30	30	25	54	20	44	/	/	30	65

Organ: Skelettmuskel. Tier: Hund.

Tabelle VI (Ausgewaschenes Gewebe)

Zusatz: Hexose-di-phosphorsäure

Konzentration in den Versuchsansätzen	Urethan		Voluntal		Bromural		Veronal		Sulfonal		Avertin	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
0,0 :	25	40	25	40	35	50	25	40	25	40	35	50
$0{,}8.10^{-6}$:	24	40	31	40	35	50	50	53	38	48	35	50
$0{,}8.10^{-5}$:	29	50	31	45	35	50	48	53	38	48	35	55
$0{,}8.10^{-4}$:	32	50	33	50	46	55	45	49	40	52	46	55
$0{,}8.10^{-3}$:	35	52	33	50	46	55	37	47	42	52	49	60
$0{,}8.10^{-2}$:	46	60	51	62	48	60	32	45	/	/	49	63

Organ: Skelettmuskel. Tier: Kaninchen.

Tabelle VII (Ausgewaschenes Gewebe)

Zusatz: Glycerinphosphorsäure

Konzentration in den Versuchsansätzen	Urethan		Voluntal		Bromural		Veronal		Sulfonal		Avertin	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1	2.
0,0 :	88	55	59	42	65	44	52	88	45	79	68	50
$0{,}8.10^{-6}$:	88	55	59	42	65	44	52	88	45	79	68	55
$0{,}8.10^{-5}$:	88	55	59	42	65	44	47	88	45	79	68	55
$0{,}8.10^{-4}$:	80	50	64	42	65	44	46	88	45	79	68	55
$0{,}8.10^{-3}$:	75	40	64	42	65	44	44	69	45	79	68	55
$0{,}8.10^{-2}$:	75	25	69	71	85	69	44	65	/	/	91	75

Organ: Skelettmuskel. Tier: Kaninchen.

Die Versuche mit Bernsteinsäure zeigen, daß lediglich das Avertin die Dehydrierung der Bernsteinsäure hemmend beeinflußt. Alle übrigen Hypnotika sind bis zu der Konzentration 1.10^{-3} wirkungslos. Nur bei der stärksten Konzentration bewirkt Bromural, Sulfonal und Voluntal eine Verlängerung der Entfärbungszeit des zugesetzten Methylenblaus. Urethan zeigt keinerlei Einwirkung. Veronal beschleunigt in der höchsten Konzentration auch die Dehydrierung der Bernsteinsäure. Im Gegensatz zu der Bernsteinsäure steht die Einwirkung auf die Sauerstoffzehrung. Die Wirkungsstärke aller Hypnotika ist dabei gleich groß. Die Reihenfolge der Wirkung ist: Veronal, Avertin, Voluntal, Urethan, Sulfonal, Bromural.

Wesentlich empfindlicher gegenüber der Einwirkung der Hypnotika ist der Abbau der Hexose—di—phosphorsäure. Alle Hypnotika wirken stark hemmend auf die Methylenblauentfärbung. Die Wirkungsrichtung der Hypnotika mit steigender Konzentration ist bei allen mit Ausnahme von Veronal die gleiche, indem die stärkste Verzögerung der Methylenblauentfärbung mit der höchsten Konzentration zusammenfällt. Eine Ausnahme macht das Veronal. Hier ist die Wirkungsrichtung genau umgekehrt, d. h. es zeigt sich das Maximum der Hemmung bei der schwächsten Konzentration. Höhere Konzentrationen sind von geringerem Einfluß.

Ein ganz neues Bild bringen die Versuche mit Glycerinphosphorsäure. Sulfonal ist ohne jeden Einfluß. Bromural und Avertin, von denen letzteres alle Fermentreaktionen am stärksten hemmt, läßt nur bei der stärksten Konzentration eine Einwirkung erkennen. Auch die Voluntaleinwirkung ist nur eben angedeutet. Gänzlich abweichend verhalten sich ähnlich der Dehydrierung der Milchsäure Urethan und Veronal. Sie beschleunigen die Dehydrierung der Glycerinphosphorsäure.

Besprechung der Ergebnisse.

Im Gegensatz zu der gleichartigen Hemmungswirkung, die alle Hypnotika auf den Sauerstoffverbrauch zeigen, finden sich beträchtliche Unterschiede der einzelnen Mittel bei der Untersuchung ihres Einflusses auf die Dehydrierungsvorgänge. Auch in den Fällen, in denen die Dehydrierung gehemmt wird — und das ist die Mehrzahl — ist diese Hemmungswirkung ganz wesentlich schwächer als bei den Oxydationen. Im einzelnen sind vor allem das Veronal und ähnlich auch das Urethan von den anderen zu unterscheiden. Beim Veronal findet sich in fast allen Versuchsreihen, beim Urethan bei der Milchsäure und Glycerinphosphorsäure eine Beschleunigung der Methylenblauentfärbung, die also im Gegensatz zu der Hemmung der Oxydationen steht. Auch in anderer Hinsicht zeigt sich das Veronal von den übrigen Hypnoticis verschieden. Während diese mit steigender Konzentration die Dehydrierung zunehmend hemmen, zeigt das Veronal, falls überhaupt eine Hemmungswirkung feststellbar ist, das Maximum der Hemmung bei den niedrigsten Konzentrationen. Während das Urethan in allen Konzentrationen bei Bernsteinsäurezusatz keinerlei Einwirkung hat, hemmt es bei der Hexose—di—phosphorsäure stärker als fast alle anderen Mittel. Gerade das Beispiel des Urethans zeigt also die großen Verschiedenheiten in der Empfindlichkeit der einzelnen Fermentreaktionen gegen Gifte.

Die unterschiedliche Einwirkung auf die Stoffwechselvorgänge durch Mittel, welche ihrem pharmakologischen Grundtypus nach gewöhnlich einheitlich aufgefaßt werden, läßt erkennen, daß am Stoffwechsel jedenfalls sehr erhebliche Unterschiede bestehen. Diese Verschiedenheiten könnten möglicherweise die Grundlage für eine neue Gruppierung innerhalb der Gruppe der Hypnotika sein.

*

Lebenslauf.

Am 23. August 1910 wurde ich zu Dortmund geboren. Nach meiner Volksschulzeit besuchte ich die Oberrealschule in Dortmund und legte dort Ostern 1929 die Reifeprüfung ab. Im Wintersemester 29/30 begann mein zahnärztliches Studium an der Westf. Wilhelms-Universität in Münster. Nach 3 Semestern bestand ich dort das Physikum und nach weiteren 4 Semestern das zahnärztliche Staatsexamen mit dem Prädikat „sehr gut".

*